

PCT/JPC3/11600

日本国特許庁  
JAPAN PATENT OFFICE

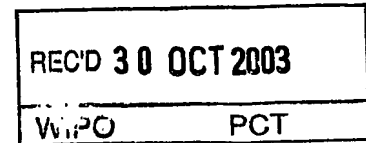
10.09.03

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日 2002年 9月11日  
Date of Application:

出願番号 特願2002-265884  
Application Number:  
[ST. 10/C]: [JP2002-265884]



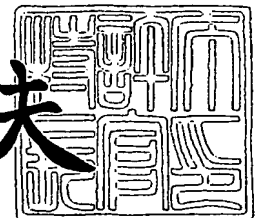
出願人 石橋 道男  
Applicant(s):

**PRIORITY  
DOCUMENT**  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2003年10月17日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

今井康夫



【書類名】 特許願

【整理番号】 DI01J833

【提出日】 平成14年 9月11日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 A61K 35/00

【発明者】

    【住所又は居所】 大阪府堺市庭代台 4 丁 2 5 番 1 6 号

    【氏名】 石橋 道男

【特許出願人】

    【識別番号】 500138054

    【氏名又は名称】 石橋 道男

【代理人】

    【識別番号】 100077012

    【弁理士】

    【氏名又は名称】 岩谷 龍

    【電話番号】 06-4796-1300

【手数料の表示】

    【予納台帳番号】 066372

    【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

    【物件名】 明細書 1

    【物件名】 要約書 1

    【包括委任状番号】 0006636

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 病変選択的に修復再生を誘導することによる臓器組織障害の予防治療薬

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 調節型 T リンパ球と再生促進型マクロファージを誘導する化合物を含有することを特徴とするアポトーシス死、変性、線維化と萎縮に至る硬化病変を抑制して、選択的に前記病変を修復再生する医薬組成物。

【請求項 2】 (a) 調節型 CD2-CD4+ T リンパ球を誘導し細胞障害型マクロファージの産生と機能を抑制し再生促進型 CD11b+CD2+マクロファージを優位に増加させるか、または (b) 調節型 T リンパ球を介さずに再生促進性 CD11b+CD2+マクロファージを優位に増加させる化合物を含有することを特徴とする腎臓の糸球体病変の予防または／および治療のための医薬。

【請求項 3】 ヒト末梢血単核球細胞とリポ多糖類とが接触して惹起される再生促進型 CD11b+CD2+マクロファージおよび調節型 CD2-CD4+ T リンパ球の誘導を促進する化合物を含有することを特徴とする腎臓の糸球体病変の予防または／および治療のための医薬。

【請求項 4】 (a) 調節型 CD2-CD4+ T リンパ球を誘導し細胞障害型マクロファージの産生と機能を抑制し再生促進型 CD11b-CD2+マクロファージを優位に増加させるか、または (b) 調節型リンパ球を介さずに再生促進型 CD11b-CD2+マクロファージを優位に増加させる化合物を含有することを特徴とする腎臓の尿細管・間質病変の予防または／および治療のための医薬。

【請求項 5】 ヒト末梢血単核球細胞とマイトマイシン処理ヒト末梢血単核球細胞とが接触して惹起される再生促進型 CD11b-CD2+マクロファージおよび調節型 CD2-CD4+ T リンパ球の誘導を促進する化合物を含有することを特徴とする腎臓の尿細管・間質病変の予防または／および治療のための医薬。

【請求項 6】 (a) 請求項 2 または請求項 3 に記載の医薬と、(b) 請求項 4 または請求項 5 に記載の医薬とを併用することを特徴とする腎疾患の予防治療薬。

【請求項 7】 ヒト末梢血単核球細胞とリポ多糖類とが接触して惹起される再

生促進型CD11b+CD2+マクロファージおよび調節型CD2-CD4+ Tリンパ球の誘導に対して被検化合物が示す促進作用を測定することを特徴とする、腎臓の糸球体病変を予防、緩和または治癒できる化合物のスクリーニング方法。

【請求項 8】 被検化合物、リポ多糖類およびヒトAB型血清の存在下にヒト末梢血単核球細胞をRPMI1640培地で培養することにより再生促進型CD11b+CD2+マクロファージおよび調節型CD2-CD4+ Tリンパ球を誘導し、CD11b+CD2+マクロファージおよびCD2-CD4+ Tリンパ球の数を測定し、被検化合物が存在しなかったときに比べて、CD11b+CD2+マクロファージおよびCD2-CD4+ Tリンパ球の増加を検出することを特徴とする請求項 7 に記載のスクリーニング法。

【請求項 9】 (i) リポ多糖類およびヒトAB型血清の存在下にヒト末梢血単核球細胞をRPMI1640培地で培養することにより細胞障害型マクロファージを誘導し、一方で (ii) 被検化合物の存在下にヒト末梢血未分画 Tリンパ球をリポ多糖類の添加あるいは無添加にて培養することにより未分画 Tリンパ球を誘導し、(iii) 前記 (ii) で得られた未分画 Tリンパ球の存在下、前記 (i) で得られた細胞障害型マクロファージを単層化した自己赤血球と接触させたときの細胞障害型マクロファージの産生数を測定し、(iv) 被検化合物が存在しなかったときに比べて、細胞障害型マクロファージの産生数の減少を検出することを特徴とする、腎臓の糸球体病変を予防、緩和または治癒できる化合物のスクリーニング方法。

【請求項 10】 (i) 被検化合物、ヒトAB型血清およびリポ多糖類の存在下にヒト末梢血単核球細胞を培養することにより未分画 Tリンパ球を誘導し、(ii) 誘導された未分画 Tリンパ球中の調節型CD2-CD4+ Tリンパ球の数を測定し、(iii) 被検化合物が存在しなかったときに比べて、調節型CD2-CD4+ Tリンパ球の増加を検出することを特徴とする、腎臓の糸球体病変を予防、緩和または治癒できる化合物のスクリーニング方法。

【請求項 11】 ヒト末梢血単核球細胞とマイトマイシン処理ヒト末梢血単核球細胞とが接触して惹起される再生促進型CD11b-CD2+マクロファージおよび調節型CD2-CD4+ Tリンパ球の誘導に対して被検化合物が示す促進作用を測定することを特徴とする、腎臓の尿細管・間質病変を予防、緩和もしくは治癒できる化合物のスクリーニング方法。

【請求項 1 2】 被検化合物およびヒトAB型血清の存在下に、ヒト末梢血単核球細胞とマイトマイシン処理ヒト末梢血単核球細胞をRPMI1640培地で培養することにより再生促進型CD11b-CD2+マクロファージおよび調節型CD2-CD4+Tリンパ球を誘導し、CD11b-CD2+マクロファージおよびCD2-CD4+Tリンパ球の数を測定し、被検化合物が存在しなかったときに比べて、CD11b-CD2+マクロファージおよびCD2-CD4+Tリンパ球の増加を検出することを特徴とする請求項 1 1 に記載のスクリーニング方法。

【請求項 1 3】 (i) ヒトAB型血清の存在下にヒト末梢血単核球細胞とマイトマイシン処理ヒト末梢血単核球細胞をRPMI1640培地で培養することにより細胞障害型マクロファージを誘導し、一方で(ii) 被検化合物の存在下、ヒト末梢血未分画Tリンパ球をマイトマイシン処理ヒト末梢血単核球細胞の添加あるいは未添加にて培養することにより未分画Tリンパ球を誘導し、(iii) 前記(ii)で得られた未分画Tリンパ球の存在下、前記(i)で得られた細胞障害型マクロファージを単層化した自己赤血球と接触させたときの細胞障害型マクロファージの産生数を測定し、(iv) 被検化合物が存在しなかったときに比べて、細胞障害型マクロファージの産生数の減少を検出することを特徴とする、腎臓の尿細管・間質病変を予防、緩和もしくは治癒できる化合物のスクリーニング方法。

【請求項 1 4】 (i) 被検化合物およびヒトAB型血清の存在下にマイトマイシン処理ヒト末梢血単核球細胞とヒト末梢血単核球細胞とを培養することにより未分画Tリンパ球を誘導し、(ii) 誘導された未分画Tリンパ球中の調節型CD2-CD4+Tリンパ球の数を測定し、(iii) 被検化合物が存在しなかったときに比べて、調節型CD2-CD4+Tリンパ球の増加を検出することを特徴とする、腎臓の尿細管・間質病変を予防、緩和もしくは治癒できる化合物のスクリーニング方法。

【請求項 1 5】 (a) ヒト末梢血単核球細胞および(b) リポ多糖類、さらに所望により(c) ヒトAB型血清または／および(d) RPMI 1640 培地を含むことを特徴とする腎臓の糸球体病変を予防、緩和または治癒できる化合物のスクリーニング用キット。

【請求項 1 6】 (a) ヒト末梢血単核球細胞および(b) マイトマイシン処理ヒト末梢血単核球細胞、さらに所望により(c) ヒトAB型血清または／およ

び (d) RPMI 1640 培地を含むことを特徴とする腎臓の尿細管・間質病変を予防、緩和または治療できる化合物のスクリーニング用キット。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、臓器組織障害に対して病変選択的な再生促進型免疫担当細胞、すなわち、病変選択的な調節型 T リンパ球と再生促進型マクロファージを誘導することによって、病変選択的に組織障害を引き起こす細胞障害型マクロファージの産生と機能を抑制し、アポトーシス死、変性、線維化と萎縮に至る過程を阻止し、病変の修復と再生もたらし、臓器組織の機能を回復温存させ、進行性障害を予防または／および治療することができる医薬および該医薬となり得る化合物のスクリーニング方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

臓器組織障害は、外傷；高血圧；血行動態の循環不全；阻血再灌流障害；代謝障害；ウイルス、癌もしくは細菌感染症による炎症；拒絶反応などさまざま原因により引き起こされる。原因に対する根治的な治療としては、臓器への血行再建術による阻血障害の回避などが挙げられる。しかし、一般的には、循環器または代謝性疾患では降圧剤や糖代謝改善剤により細胞障害を回避する治療、自己免疫疾患や臓器移植の拒絶反応に対しては免疫抑制療法により組織の温存を図る治療と対症療法がなされている。また、ステロイド剤は多様な作用を有し難治性疾患へは有効であるが、有効な高用量を長期にわたり使用することは副作用の発現から困難となり、進行性の臓器組織障害を進展阻止するには至っていない。

【0003】

一旦壊死に至った細胞組織の場合、その進行は不可逆的であり修復再生は不可能である。現在までのところ、障害をうけた組織細胞の修復再生に対しては、個体が有する組織固有の修復と再生能に期待する以外にないが、障害の程度によっては病変がアポトーシス死、変性、線維化と萎縮に至り、組織臓器の機能不全に陥る。病変がアポトーシス死、変性、線維化と萎縮に至る過程を制御し、個体の

有する修復再生能を引き出すことを目的とした遺伝子治療や再生医学による実験的な研究がなされている段階である。病変に対して選択的に修復再生を誘導し、長期にわたり内服を可能とする医薬はまだ存在していない。

#### 【0004】

個体の有する病変の修復と再生能については、白血球がなんらかの作用を有していることは知られている。たとえば、創傷治癒の実験的な研究において、マクロファージがなんらかの修復再生に働きを持つことが示唆されている（非特許技術文献1）。また、臓器の再生について、非特許技術文献2のなかで、急性腎不全からの回復過程に腎尿細管の再生に白血球の浸潤が観察されることから、白血球がなんらかの働きを担っていることが示唆されているが、その詳細は明らかでない。

#### 【0005】

本発明者らは、臓器障害後の進行性病変に細胞障害型のマクロファージエフェクターが存在し、腎糸球体病変と腎尿細管・間質病変にそれぞれ対応して産生されていること、そして、対応するマクロファージエフェクターを選択的に産生阻害する化合物が存在することを示した（特許技術文献1）。しかし、病変に対して選択的に修復再生を誘導する化合物については記載がなく、いまだ明らかにはなっていない。

#### 【0006】

##### 【特許技術文献1】

国際公開第01/72730号パンフレット

##### 【非特許技術文献1】

Cowin AJ, Kallincos N, Hatzirodos N, Robertson JG, Pickering KJ, Couper J, Belford DA. "Hepatocyte growth factor and macrophage-stimulating protein are upregulated during excisional wound repair in rats." Cell Tissue Res 2001, vol.306: p.239-250

##### 【非特許技術文献2】

Manuela Ghielli, Walter A. Verstrepen, Etienne J Nouwen, Marc E De Broe "Inflammatory cells in renal regeneration." Renal Failure, 1996,

vol. 18, p. 355-375

【0007】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、臓器組織障害に対して病変選択的な再生促進型免疫担当細胞を誘導し病変選択的に修復と再生をもたらすことによる臓器組織障害の予防または／および治療のための医薬を提供することを目的とする。すなわち、病変選択的な調節型Tリンパ球と再生促進型マクロファージを誘導することによって、病変選択的に組織障害を引き起こす細胞障害型マクロファージの産生と機能を抑制しアポトーシス死、変性、線維化と萎縮に至る過程を阻止し、病変の修復と再生をもたらす、臓器組織の機能を回復温存させ、臓器組織障害、特に進行性障害を予防または／および治療するための医薬を提供することを目的とする。

【0008】

本発明の他の目的は、修復再生の免疫制御応答を選択的に病変部位に誘導する再生促進型免疫担当細胞、すなわち、再生促進型マクロファージあるいは調節型Tリンパ球を病変選択的に誘導する化合物のスクリーニング方法を提供することである。

また、本発明のさらに他の目的は、糸球体病変と尿細管・間質病変それぞれに薬効を持つ化合物、すなわち糸球体病変と尿細管・間質病変それぞれの組織の修復と再生をもたらす化合物を併用して、腎疾患を治療する方法を提供することである。

【0009】

【課題を解決するための手段】

本発明者は、臓器障害において組織の再生を促進する働きを有するマクロファージが存在するのではないかという着想のもと、マクロファージのケモカインレセプターや接着分子について研究した。その結果、組織が障害を受けると再生促進型マクロファージが誘導され、病変選択的に組織の修復と再生をもたらすという思いがけない知見を得た。より具体的には、CD11b+CD2+マクロファージは腎臓の糸球体病変の修復と再生に関与し、CD11b-CD2+マクロファージが腎臓の尿細管・間質病変の修復と再生に関与するという知見を得た。さらに、本発明者は、T



リンパ球についても研究したところ、調節型CD2-CD4+ Tリンパ球が臓器障害後の組織の修復と再生に関与しているという知見を得た。

#### 【0010】

さらに、本発明者は、腎臓全体の病変を改善するためには、糸球体病変と尿細管・間質病変双方に一致した細胞障害型マクロファージを調整型Tリンパ球の誘導により選択的に抑制し、同時に再生促進型マクロファージを局所病変へ選択的に誘導するという合目的な免疫応答の制御が必要であることを知見した。そして、糸球体病変と尿細管・間質病変それぞれに薬効をもつ化合物を併用して腎疾患を治療する医薬を知見した。

本発明者らは、さらに検討を重ね、本発明を完成した。

#### 【0011】

すなわち、本発明は、

(1) 調節型Tリンパ球と再生促進型マクロファージを誘導する化合物を含有することを特徴とするアポトーシス死、変性、線維化と萎縮に至る硬化病変を抑制して、選択的に前記病変を修復再生する医薬組成物、

(2) (a) 調節型CD2-CD4+ Tリンパ球を誘導し細胞障害型マクロファージの産生と機能を抑制し再生促進型CD11b+CD2+マクロファージを優位に増加させるか、または (b) 調節型Tリンパ球を介さずに再生促進性CD11b+CD2+マクロファージを優位に増加させる化合物を含有することを特徴とする腎臓の糸球体病変の予防または／および治療のための医薬、

(3) ヒト末梢血単核球細胞とリポ多糖類とが接触して惹起される再生促進型CD11b+CD2+マクロファージおよび調節型CD2-CD4+ Tリンパ球の誘導を促進する化合物を含有することを特徴とする腎臓の糸球体病変の予防または／および治療のための医薬、  
に関する。

#### 【0012】

また、本発明は、

(4) (a) 調節型CD2-CD4+ Tリンパ球を誘導し細胞障害型マクロファージの産生と機能を抑制し再生促進型CD11b-CD2+マクロファージを優位に増加させる

か、または (b) 調節型リンパ球を介さずに再生促進型CD11b-CD2+マクロファージを優位に増加させる化合物を含有することを特徴とする腎臓の尿細管・間質病変の予防または／および治療のための医薬、

(5) ヒト末梢血単核球細胞とマイトマイシン処理ヒト末梢血単核球細胞とが接触して惹起される再生促進型CD11b-CD2+マクロファージおよび調節型CD2-CD4+Tリンパ球の誘導を促進する化合物を含有することを特徴とする腎臓の尿細管・間質病変の予防または／および治療のための医薬、

(6) (a) 前記 (2) または前記 (3) に記載の医薬と、(b) 前記 (4) または前記 (5) に記載の医薬とを併用することを特徴とする腎疾患の予防治療薬、  
に関する。

#### 【0013】

また、本発明は、

(7) ヒト末梢血単核球細胞とリポ多糖類とが接触して惹起される再生促進型CD11b+CD2+マクロファージおよび調節型CD2-CD4+Tリンパ球の誘導に対して被検化合物が示す促進作用を測定することを特徴とする、腎臓の糸球体病変を予防、緩和または治療できる化合物のスクリーニング方法、

(8) 被検化合物、リポ多糖類およびヒトAB型血清の存在下にヒト末梢血単核球細胞をRPMI1640培地で培養することにより再生促進型CD11b+CD2+マクロファージおよび調節型CD2-CD4+Tリンパ球を誘導し、CD11b+CD2+マクロファージおよびCD2-CD4+Tリンパ球の数を測定し、被検化合物が存在しなかったときに比べて、CD11b+CD2+マクロファージおよびCD2-CD4+Tリンパ球の増加を検出することを特徴とする前記 (7) に記載のスクリーニング法、  
に関する。

#### 【0014】

また、本発明は、

(9) (i) リポ多糖類およびヒトAB型血清の存在下にヒト末梢血単核球細胞をRPMI1640培地で培養することにより細胞障害型マクロファージを誘導し、一方で(ii) 被検化合物の存在下にヒト末梢血末分画Tリンパ球をリポ多糖類の添

加あるいは無添加にて培養することにより未分画Tリンパ球を誘導し、(iii) 前記(ii)で得られた未分画Tリンパ球の存在下、前記(i)で得られた細胞障害型マクロファージを単層化した自己赤血球と接触させたときの細胞障害型マクロファージの産生数を測定し、(iv) 被検化合物が存在しなかったときに比べて、細胞障害型マクロファージの産生数の減少を検出することを特徴とする、腎臓の糸球体病変を予防、緩和または治療できる化合物のスクリーニング方法、

(10) (i) 被検化合物、ヒトAB型血清およびリポ多糖類の存在下にヒト末梢血単核球細胞を培養することにより未分画Tリンパ球を誘導し、(ii) 誘導された未分画Tリンパ球中の調節型CD2-CD4<sup>+</sup>Tリンパ球の数を測定し、(iii) 被検化合物が存在しなかったときに比べて、調節型CD2-CD4<sup>+</sup>Tリンパ球の増加を検出することを特徴とする、腎臓の糸球体病変を予防、緩和または治療できる化合物のスクリーニング方法、  
に関する。

#### 【0015】

また、本発明は、

(11) ヒト末梢血単核球細胞とマイトマイシン処理ヒト末梢血単核球細胞とが接触して惹起される再生促進型CD11b-CD2<sup>+</sup>マクロファージおよび調節型CD2-CD4<sup>+</sup>Tリンパ球の誘導に対して被検化合物が示す促進作用を測定することを特徴とする、腎臓の尿細管・間質病変を予防、緩和もしくは治療できる化合物のスクリーニング方法、

(12) 被検化合物およびヒトAB型血清の存在下に、ヒト末梢血単核球細胞とマイトマイシン処理ヒト末梢血単核球細胞をRPMI1640培地で培養することにより再生促進型CD11b-CD2<sup>+</sup>マクロファージおよび調節型CD2-CD4<sup>+</sup>Tリンパ球を誘導し、CD11b-CD2<sup>+</sup>マクロファージおよびCD2-CD4<sup>+</sup>Tリンパ球の数を測定し、被検化合物が存在しなかったときに比べて、CD11b-CD2<sup>+</sup>マクロファージおよびCD2-CD4<sup>+</sup>Tリンパ球の増加を検出することを特徴とする前記(11)に記載のスクリーニング方法、  
に関する。

#### 【0016】

また、本発明は、

(13) (i) ヒトAB型血清の存在下にヒト末梢血単核球細胞とマイトマイシン処理ヒト末梢血単核球細胞をRPMI1640培地で培養することにより細胞障害型マクロファージを誘導し、一方で(ii)被検化合物の存在下、ヒト末梢血未分画Tリンパ球をマイトマイシン処理ヒト末梢血単核球細胞の添加あるいは未添加にて培養することにより未分画Tリンパ球を誘導し、(iii)前記(ii)で得られた未分画Tリンパ球の存在下、前記(i)で得られた細胞障害型マクロファージを単層化した自己赤血球と接触させたときの細胞障害型マクロファージの産生数を測定し、(iv)被検化合物が存在しなかったときに比べて、細胞障害型マクロファージの産生数の減少を検出することを特徴とする、腎臓の尿細管・間質病変を予防、緩和もしくは治癒できる化合物のスクリーニング方法、

(14) (i)被検化合物およびヒトAB型血清の存在下にマイトマイシン処理ヒト末梢血単核球細胞とヒト末梢血単核球細胞とを培養することにより未分画Tリンパ球を誘導し、(ii)誘導された未分画Tリンパ球中の調節型CD2-CD4+Tリンパ球の数を測定し、(iii)被検化合物が存在しなかったときに比べて、調節型CD2-CD4+Tリンパ球の増加を検出することを特徴とする、腎臓の尿細管・間質病変を予防、緩和もしくは治癒できる化合物のスクリーニング方法、に関する。

#### 【0017】

また、本発明は、

(15) (a)ヒト末梢血単核球細胞および(b)リポ多糖類、さらに所望により(c)ヒトAB型血清または／および(d)RPMI1640培地を含むことを特徴とする腎臓の糸球体病変を予防、緩和または治癒できる化合物のスクリーニング用キット、

(16) (a)ヒト末梢血単核球細胞および(b)マイトマイシン処理ヒト末梢血単核球細胞、さらに所望により(c)ヒトAB型血清または／および(d)RPMI1640培地を含むことを特徴とする腎臓の尿細管・間質病変を予防、緩和または治癒できる化合物のスクリーニング用キット、に関する。

## 【0018】

## 【発明の実施の形態】

本発明は、病変に対する選択的な組織障害を引き起こす細胞障害型マクロファージの産生と機能を抑制し、アポトーシス死、変性、線維化と萎縮に至る過程を阻止し、病変の局所免疫応答に対して選択的な再生促進型免疫担当細胞、すなわち、調節型Tリンパ球と再生促進型マクロファージを誘導することによって、病変の修復と再生もたらし臓器組織の機能を回復温存させ進行性障害を予防または／および治療するための医薬となり得る化合物のスクリーニング方法を提供する。

## 【0019】

前記スクリーニング方法は、調節型Tリンパ球と再生促進型マクロファージの病変に対応した選択的な誘導が、被検化合物の存在により促進されるか否かを測定することにより行うことができる。

より具体的には、調節型CD2-CD4<sup>+</sup> Tリンパ球と再生促進型CD11b+CD2<sup>+</sup>マクロファージの誘導を被検化合物が促進するか否かを測定することにより、腎臓の糸球体の修復再生を促す化合物をスクリーニングすることができる。前記誘導を促進する化合物は、糸球体病変の予防または／および治療薬となり得る。なお、再生促進型CD11b+CD2<sup>+</sup>マクロファージの誘導を被検化合物が促進するか否かのみを測定することによっても、前記化合物をスクリーニングすることはできる。

また、調節型CD2-CD4<sup>+</sup> Tリンパ球と再生促進型CD11b-CD2<sup>+</sup>マクロファージの誘導を被検化合物が促進するか否かを測定することにより、腎臓の尿細管・間質の修復再生を促す化合物をスクリーニングすることができる。前記誘導を促進する化合物は、腎臓の尿細管・間質病変の予防または／および治療薬となり得る。なお、再生促進型CD11b-CD2<sup>+</sup>マクロファージの誘導を被検化合物が促進するか否かのみを測定することによっても、前記化合物をスクリーニングすることはできる。

## 【0020】

本発明のスクリーニング方法において使用する被検化合物は、どのようなものでもよく、例えば、ペプチド、タンパク、非ペプチド性化合物、合成化合物、発

酵生産物、細胞抽出液、植物抽出液、動物組織抽出液または血漿などであってよく、公知化合物であっても新規化合物であってもよい。

また、複数の被検化合物を同時にスクリーニングし、陽性であった場合にのみ、個々の化合物について再びスクリーニングを行うなど等公知手段を組み合わせてもよい。

#### 【0021】

本発明のスクリーニング方法を実施するために、調節型Tリンパ球と再生促進型マクロファージを病変に対応して選択的に誘導する方法を以下に述べる。下記方法は、好ましい態様であり、前記誘導方法は下記方法に限定されない。

腎臓の糸球体病変を選択的に修復再生する再生促進型CD11b+CD2+マクロファージおよび調節型CD2-CD4+Tリンパ球は、リポ多糖類とヒト末梢血単核球細胞を接触させることにより誘導される。また、前記調節型CD2-CD4+Tリンパ球の誘導は、次の方法により間接的に観察することができる。リポ多糖類およびヒトAB型血清の存在下にヒト末梢血単核球細胞をRPMI1640培地で培養することにより細胞障害型マクロファージを誘導し、該誘導させた細胞障害型マクロファージを単層化した自己赤血球と接触させるとき、同時に自己赤血球とロゼット形成能のない末梢血Tリンパ球を添加することにより、細胞障害型マクロファージの産生数を介して調節型CD2-CD4+Tリンパ球の誘導を観察することができる。このとき、細胞障害型マクロファージの産生数が少なくなれば、調節型Tリンパ球が誘導されており、その減少の度合いが大きくなるほど調節型Tリンパ球の誘導が促進されている。

#### 【0022】

腎臓の尿細管・間質病変を修復再生する再生促進型CD11b-CD2+マクロファージおよび調節型CD2-CD4+Tリンパ球は、ヒト末梢血単核球細胞とマイトマイシン処理ヒト末梢血単核球細胞を接触させることにより誘導される。また、前記調節型CD2-CD4+Tリンパ球の誘導は、次の方法により間接的に観察することができる。ヒトAB型血清の存在下に、ヒト末梢血単核球細胞とマイトマイシン処理ヒト末梢血単核球細胞をRPMI1640培地で培養することにより惹起される細胞障害型マクロファージを誘導し、該誘導させた細胞障害型マクロファージを単層化した自己赤

血球と接触させるとき、同時に自己赤血球とロゼット形成能のない末梢血Tリンパ球を添加することにより、細胞障害型マクロファージの産生数を介して調節型CD2-CD4+Tリンパ球の誘導を観察することができる。このとき、細胞障害型マクロファージの産生数が少なくなれば、調節型Tリンパ球が誘導されており、その減少の度合いが大きくなるほど調節型Tリンパ球の誘導が促進されている。

#### 【0023】

上記のように行われ得る調節型Tリンパ球と再生促進型マクロファージの誘導が被検化合物の存在により促進されるか否かは、被検化合物の存在および不存在下で前記誘導を行い、公知の方法により調節型Tリンパ球および再生促進型マクロファージの産生数を測定し、被検化合物が存在していたときの方が被検化合物が存在していなかったときと比べて前記産生数が増加しているか否かにより、判断することができる。前記公知の方法としては、例えばフローサイトメトリーなどが挙げられる。

また、細胞障害型マクロファージの産生数を介して、調節型Tリンパ球の誘導を観察する場合は、被検化合物を存在させる場合の方が、被検化合物を存在させない場合に比べて、細胞障害型マクロファージの産生数が減少していれば、被検化合物は病変の修復と再生もたらす目的とする化合物であると判断できる。

#### 【0024】

本発明のスクリーニング方法の好ましい態様を以下に述べる。

腎臓の糸球体病変を予防、緩和または治療できる化合物のスクリーニング方法としては、被検化合物、リポ多糖類およびヒトAB型血清の存在下にヒト末梢血単核球をRPMI1640培地で培養することにより再生促進型CD11b+CD2+マクロファージおよび調節型CD2-CD4+Tリンパ球を誘導し、フローサイトメトリーによりCD11b+CD2+マクロファージおよびCD2-CD4+Tリンパ球の数を測定し、被検化合物が存在しなかったときに比べて、CD11b+CD2+マクロファージおよびCD2-CD4+Tリンパ球の数が増加する化合物をスクリーニングする方法（便宜上、スクリーニング方法Aという。）が挙げられる。

#### 【0025】

前記リポ多糖類としては、自体公知のものを用いてよい。例えば、サルモネラ

菌または大腸菌等のグラム陰性菌由来のリポ多糖類が挙げられる。いわゆるラフ型のものであっても、スムーズ型のものであってもよい。

リポ多糖類の調製には、自体公知の方法を用いてよく、例えば、微生物から抽出し、所望により毒性を除去する処理をする方法が挙げられる。微生物からの抽出方法は、例えば、熱フェノール抽出法 (Westphal & Jann., Methods Carbohydr. Chem. 5, 83-89 (1965))、または微生物をラウリル硫酸ナトリウム (SDS) 存在下でプロテナーゼK処理をする方法などを挙げることができる。また、化学的に合成したものをを用いてもよいし、市販のものを適宜用いることもできる。本発明においては、適当な溶媒、好ましくは RPMI 1640 液を用いて溶液としたときに、濃度が約  $60 \sim 100 \mu\text{g/mL}$  程度、好ましくは約  $70 \sim 90 \mu\text{g/mL}$  程度、より好ましくは約  $80 \mu\text{g/mL}$  程度の高濃度のものをを用いることが好ましい。

#### 【0026】

前記ヒト末梢血単核球細胞は、ヒトの末梢血から自体公知の方法により得ることができる。例えば、ヒトの末梢血から単核球細胞を分離する方法としては、5.7% w/v のフィコール 400 と、9.0% w/v のジアトリゾネイト ナトリウム (Sodium diatrizoate) の水溶液であって比重が  $1.077 \text{ g/mL}$  に調整されたフィコール・パック (Ficoll-Paque、登録商標、ファルマシア・ファイン・ケミカルズ (Pharmacia Fine Chemicals) 社製) とを用いた遠心分離方法をあげることができる。より具体的には、上記の方法は、(a) 予め決められた量のフィコール・パックを試験管の底に設置する工程、(b) そのまま或いは希釈した血液試料を注意深くフィコール・パック上にピペットで移す工程、(c) フィコール・パックの比重よりも大きい比重を有する血液成分が、フィコール・パック中に進むか、あるいはフィコール・パックを通過するように、(b) で作製したフィコール・パック血液調整物を約  $400 \sim 500 \times g$  で約  $30 \sim 40$  分間遠心分離する工程、(d) ピペットでフィコール・パックの上方に分離された単核球細胞層を採取する工程からなる。

#### 【0027】

前記 RPMI 1640 培地は、Goding, J. W. (1980) J. Immunol. Methods 39



、285, JAMA 199(1957)519に記載されている。また、市販品 (Sigma社製) を用いてもよい。被検化合物、リポ多糖類、ヒトAB型血清およびヒト末梢血単核球細胞は、任意の組み合わせの2種または全てを予め混合してから前記培地に加えてもよいし、それぞれを単独で前記培地に加えてもよい。培地に添加する順序は問わない。しかし、より好ましくは、被検化合物、ヒトAB型血清を予め添加したRPMI 1640培地にヒト未処理末梢単核球を添加し、ついでリポ多糖類を添加するのが好ましい。

#### 【0028】

上記スクリーニング方法Aはより具体的には以下のようにして行う。ヒト正常末梢血単核球細胞 (peripheral blood mononuclear cell、以下PBMCと略すこともある。) の分離は、比重遠心法により行う。ヘパリン加滅菌シリンジにて約40mlを末梢血から採血し、血液を直ちにEDTA加 (100mlあたり1.2mlのEDTA) 滅菌冷却生理食塩水を等量入れた50mlプラスチックチューブに入れる。Histopaque d=1.111 (Sigma社製)、Ficoll-Paque d=1.078 (Pharmacia Biotech社製) を等量ずつ重層したうえで血液を重層して、遠心してPBMC分画を得る。リポ多糖類 (lipopolysaccharide、以下LPSと略すこともある。) はSigma L-4391 E-coli由来のものを使用する。被検化合物、ヒトAB正常血清、2mM L-グルタミン、5 $\mu$ g/mlゲンタミシン (gentamicin) を含有するRPMI1640培養液に浮遊させた $2 \times 10^6$  PBMCにLPSを80 $\mu$ g/mlの濃度になるように添加して、37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub>-95%air下で6日間培養する。このとき被検化合物の濃度は、特に限定されないが、例えば約1 $\mu$ M~0.001 $\mu$ M程度が好ましく、また種々の濃度の被検化合物を添加することが好ましい。

#### 【0029】

培養後付着細胞をすべて回収し、1%牛アルブミンを加えたHanks液に浮遊させる。フローサイトメトリーには、以下の標識された抗ヒトCD2, CD4 CD11bモノクローナル抗体を使用する。抗ヒトCD2モノクローナル抗体 (anti-human CD2 monoclonal antibody, SFCI3Pt2H9 (T11-1), Coulter社製) の抗体にfluorescein isocyanate (FITC製) を標識したもの、抗ヒトCD4モノクローナル抗体 (anti-human CD4-allophycocyanin標識抗体、Beckton Dickinson, Immunocytometry Sy

stems社製)、抗ヒトCD11bモノクローナル抗体 (anti-human CD11b monoclonal antibody, clone 44 GenzymeTechme社製) に phycoerythrinを標識したものを使用する。FACScanにて、CD11b+CD2+単球マクロファージ分画、CD2-CD4+Tリンパ球分画を測定し、被検化合物を加えたときに20%以上の分画が増加した化合物を陽性と判断する。

### 【0030】

腎臓の糸球体病変を予防、緩和または治癒できる化合物のスクリーニング方法としては、被検化合物およびヒトAB型血清の存在下に、ヒト末梢血単核球細胞とマイトマイシン処理ヒト末梢血単核球細胞をRPMI1640培地で培養することにより再生促進型CD11b-CD2+マクロファージおよび調節型CD2-CD4+Tリンパ球を誘導し、フローサイトメトリーによりCD11b-CD2+マクロファージおよびCD2-CD4+Tリンパ球の数を測定し、被検化合物が存在しなかったときに比べて、CD11b-CD2+マクロファージおよびCD2-CD4+Tリンパ球の数が増加する化合物をスクリーニングする方法（便宜上、スクリーニング方法Bという。）が挙げられる。

### 【0031】

前記マイトマイシン処理ヒト末梢単核球細胞は、例えば上記のような公知方法を用いて得られたヒト末梢単核球細胞に、マイトマイシンの最終濃度が約40  $\mu$ g/mL程度となるように添加し、約37℃程度で約20分程度加熱処理することにより得ることができる。

### 【0032】

スクリーニング方法Bは、より具体的には上記スクリーニング方法Aと全く同様にして行うことができる。しかし、LPSの代わりに、マイトマイシン処理ヒト末梢血単核球細胞を、ヒト末梢血単核球細胞と同じ細胞数を加えて培養する。すなわち、被検化合物、ヒトAB正常血清、2mM L-グルタミン、5  $\mu$ g/mlゲンタミシンを含有するRPMI1640培養液に、 $2 \times 10^6$  PBMCおよび $2 \times 10^6$  マイトマイシン処理PBMCを浮遊させて、37℃、5%CO<sub>2</sub>-95%air下で6日間培養する。培養条件とフローサイトメトリーで使用する標識抗体は上記スクリーニング方法Aと同じであり、陽性化合物の判定も同じく実施する。

### 【0033】

腎臓の糸球体病変を予防、緩和または治癒できる化合物のスクリーニング方法の他の好ましい態様としては、(i) リポ多糖類およびヒトAB型血清の存在下にヒト末梢血単核球細胞をRPMI1640培地で培養することにより細胞障害型マクロファージを誘導し、一方で(ii) 被検化合物の存在下にヒト末梢血未分画Tリンパ球をリポ多糖類の添加あるいは無添加にて培養することにより未分画Tリンパ球を誘導し、(iii) 前記(ii)で得られた未分画Tリンパ球の存在下、前記(i)で得られた細胞障害型マクロファージを単層化した自己赤血球と接触させたときの細胞障害型マクロファージの産生数を測定し、(iv) 被検化合物が存在しなかったときに比べて、細胞障害型マクロファージの産生数を減少させる化合物をスクリーニングするという方法(便宜上、スクリーニング方法Cという。)が挙げられる。

#### 【0034】

具体的には、下記工程にしたがって行うことができる。

(a) 細胞障害型マクロファージの誘導について以下に述べる。ヒトAB正常血清、2mM L-グルタミン、5 $\mu$ g/mlゲンタミシン(gentamicin)を含有するRPMI1640培養液に浮遊させた $2 \times 10^6$  PBMCにLPSを80 $\mu$ g/mlの濃度になるように添加して、37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub>-95%air下で6日間培養し、細胞障害型マクロファージを誘導する。なお、前記PBMCはスクリーニング方法Aと同様にして得ることができる。誘導された細胞障害型マクロファージを培養液から回収する。回収には公知方法を用いてよいが、例えばrubber-policemanゴムへらを用いて付着したものを回収するという方法が挙げられる。その後洗浄を行ってもよい。洗浄には、ゲンタミシン約5 $\mu$ g/mLを添加したHanks液を用いるのが好ましい。

#### 【0035】

(b) 未分画Tリンパ球の誘導について以下に述べる。まず、ヒト末梢血未分画Tリンパ球を以下のようにして分離する。スクリーニング方法Aで述べたように比重遠心法により分離したPBMC分画に、ノイラミニダーゼ処理したヒツジ赤血球を加え37 $^{\circ}$ C 20分反応した液を静かにPercoll不連続比重層を作成したチューブに加え、400 $\times$ gにて20分室温にて遠心する。Percoll不連続比重層に、ロゼット形成したTリンパ球分画と、 $d=1.091$ 以上の層に浮遊する単球分画

をそれぞれ採取する。ロゼット形成したTリンパ球分画に塩化アンモニウムを加えヒツジ赤血球を溶血させTリンパ球分画を得る。同時に採取された単球分画を洗浄して得る。

ついで、被検化合物の存在下、分離したヒト末梢血未分画Tリンパ球にリポ多糖類を添加あるいは添加せずに培養することにより、未分画Tリンパ球を誘導させることができる。具体的には、ヒトAB正常血清、2mM L-グルタミン、5 $\mu$ g/mlゲンタミシン (gentamicin) および所望によりリポ多糖類を含有するRPMI1640培養液で、ヒト末梢血未分画Tリンパ球を、37℃、5%CO<sub>2</sub>-95%air下で、6日間培養する。誘導された未分画Tリンパ球を培養液から回収する。回収には公知方法を用いてよいが、例えばrubber-policemanゴムへらを用いて付着したものを回収するという方法が挙げられる。

#### 【0036】

(c) 前記(a)で得られた細胞障害型マクロファージと、前記(b)で得られた未分画Tリンパ球とを用いて、SPFC法により被検化合物の組織再生能について評価する。

SPFC法について以下に示す。細胞障害型マクロファージは、ある誘導された細胞障害型マクロファージを単層化した自己赤血球に接触させることにより産生されるSpontaneous Plaque-Forming Cell (以下、SPFCという)の数を測定することにより行うのが好ましい。

#### 【0037】

まず、単層化された自己赤血球を作成する。単層化された赤血球は自体公知の方法を用いて作成してよいが、以下の方法が好ましい。自己赤血球を血清添加のないHank's液にて約4%濃度とする。自己赤血球は、上述した公知方法により得られる自己赤血球を約0.1重量%のAB血清添加したリン酸緩衝生理食塩水(以下、PBSと略す)を用いて約4℃で保存したものを使用するのが好ましい。ポリ-L-リジンをTerasakiプレートに加え約37℃程度で、約20分程度処理しPBSにて洗浄後直ちに上記自己赤血球を添加し、約37℃で約30分置き付着していない赤血球を除去し、単層化した自己赤血球を付着したTerasakiプレートを得る。誘導された細胞障害型マクロファージを含む培養PBMCを約2

$\times 10^6$  個/mL程度になるようにゲンタミシン約  $5 \mu\text{g/mL}$  程度を添加した H a n k s 液を添加し細胞数濃度を調整する。

#### 【0038】

ついで、上記単層化した自己赤血球付着したTerasakiプレートのwellに約 $1 \times 10^4$ 個の (a) で得られた細胞障害型マクロファージを添加する。同時に、(b) で得られた未分画培養Tリンパ球も加える。この培養Tリンパ球のなかに細胞障害型マクロファージによるSPFC活性を阻害する調節型Tリンパ球が産生されているかを判定するために、(a) で得られた細胞障害型マクロファージと同数の (b) で得られた未分画培養Tリンパ球を加えた場合、および (a) で得られた細胞障害型マクロファージの1/5の数の (b) で得られた未分画培養Tリンパ球を加えた場合の二段階の細胞数比を設定する。最後にH a n k s 液を  $1 \sim 10 \mu\text{L}$  添加し、約  $37^\circ\text{C}$  程度で約2時間静置する。反応終了後はホルマリンで固定するのが好ましい。SPFC産生数は、位相差顕微鏡にて容易に測定できる。SPFC産生数が抑制されたかは、被検化合物を加えずに溶媒のみを用いて同一の操作を行い、被検化合物を添加した場合と比較して、抑制率%を算定する。50%以上の抑制を呈する化合物を陽性と判定する。

#### 【0039】

腎臓の糸球体病変を予防、緩和または治療できる化合物のスクリーニング方法の他の好ましい態様としては、(i) ヒトAB型血清の存在下にヒト末梢血単核球細胞とマイトマイシン処理ヒト末梢血単核球細胞をRPMI1640培地で培養することにより細胞障害型マクロファージを誘導し、一方で(ii) 被検化合物の存在下、ヒト末梢血未分画Tリンパ球をマイトマイシン処理ヒト末梢血単核球細胞の添加あるいは未添加にて培養することにより未分画Tリンパ球を誘導し、(iii) 前記(ii)で得られた未分画Tリンパ球の存在下、前記(i)で得られた細胞障害型マクロファージを単層化した自己赤血球と接触させたときの細胞障害型マクロファージの産生数を測定し、(iv) 被検化合物が存在しなかったときに比べて、細胞障害型マクロファージの産生数を減少させる化合物をスクリーニングするという方法(便宜上、スクリーニング方法Dという。)が挙げられる。

具体的に、本スクリーニング方法は、L P S の代わりに、マイトマイシン処理

PBMCを用いる以外は、前記スクリーニング方法Cと全く同様に行えばよい。

#### 【0040】

腎臓の糸球体病変を予防、緩和または治癒できる化合物のスクリーニング方法のさらに他の好ましい態様としては、(i)被検化合物、ヒトAB型血清およびリポ多糖類の存在下にヒト末梢血単核球細胞を培養することにより未分画Tリンパ球を誘導し、(ii)誘導された未分画Tリンパ球中の調節型CD2-CD4+Tリンパ球の数をフローサイトメトリーにより測定し、(iii)被検化合物が存在しなかったときに比べて、調節型CD2-CD4+Tリンパ球の数を増加させる化合物をスクリーニングするという方法（便宜上、スクリーニング方法Eという。）が挙げられる。

具体的に、本スクリーニング方法は、上記スクリーニング方法A～Dに従って行えばよい。

#### 【0041】

腎臓の尿細管・間質病変を予防、緩和もしくは治癒できる化合物のスクリーニング方法のさらに他の好ましい態様としては、(i)被検化合物およびヒトAB型血清の存在下にマイトマイシン処理ヒト末梢血単核球細胞とヒト末梢血単核球細胞を培養することにより未分画Tリンパ球を誘導し、(ii)誘導された未分画Tリンパ球中の調節型CD2-CD4+Tリンパ球の数をフローサイトメトリーにより測定し、(iii)被検化合物が存在しなかったときに比べて、調節型CD2-CD4+Tリンパ球の数を増加させる化合物をスクリーニングするという方法（便宜上、スクリーニング方法Fという。）が挙げられる。

具体的に、本スクリーニング方法は、上記スクリーニング方法A～Dに従って行えばよい。

#### 【0042】

また、本発明は、上記本発明にかかるスクリーニング方法を実施するためのスクリーニング用キットも提供する。該スクリーニング用キットの形式は特に問わず、自体公知の形式を用いてもよい。

腎臓の糸球体病変を予防または／および治癒することができる化合物をスクリーニングする際に、好ましいスクリーニング用キットの態様としては、(a)ヒ

ト末梢血単核球細胞および (b) リポ多糖類を含むキットが挙げられる。本キットは、前記 (a) および (b) 以外のもの、例えば、(c) ヒト AB 型血清または／および (d) RPMI 1640 培地などを含んでいてもよい。

腎臓の尿細管・間質病変を予防または／および治療することができる化合物をスクリーニングする際に、好ましいスクリーニング用キットの態様としては、(a) ヒト末梢血単核球細胞および (b) マイトマイシン処理ヒト末梢血単核球細胞を含むキットが挙げられる。本キットは、前記 (a) および (b) 以外のもの、例えば、(c) ヒト AB 型血清または／および (d) RPMI 1640 培地などを含んでいてもよい。

#### 【0043】

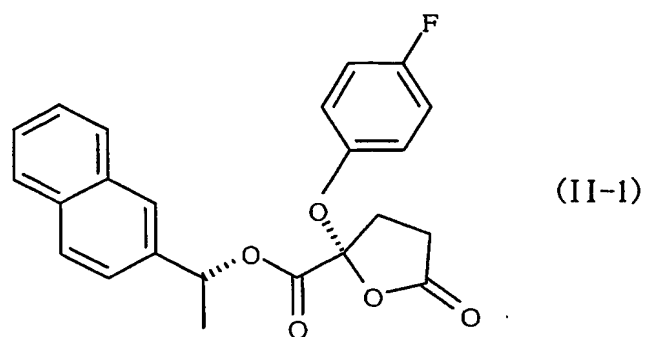
本発明は、調節型 T リンパ球と再生促進型マクロファージを誘導する化合物を含有することを特徴とするアポトーシス死、変性、線維化と萎縮に至る硬化病変を抑え、選択的に前記病変を修復再生する医薬組成物を提供する。

前記医薬組成物の一態様として、(a) 調節型 CD2-CD4<sup>+</sup> T リンパ球を誘導し細胞障害型マクロファージの産生と機能を抑制し再生促進型 CD11b<sup>+</sup>CD2<sup>+</sup>マクロファージを優位に増加させるか、または (b) 調節型 T リンパ球を介さずに再生促進型 CD11b<sup>+</sup>CD2<sup>+</sup>マクロファージを優位に増加させる化合物を含有することを特徴とする腎臓の糸球体病変の予防または／および治療のための医薬が挙げられる。前記医薬に含まれる化合物は、上記スクリーニング方法により得ることができる。なかでも、前記医薬の好ましい態様としては、ヒト末梢血単核球細胞とリポ多糖類とが接触して惹起される再生促進型 CD11b<sup>+</sup>CD2<sup>+</sup>マクロファージおよび調節型 CD2-CD4<sup>+</sup> T リンパ球の誘導を促進する化合物を含有する医薬が挙げられる。

#### 【0044】

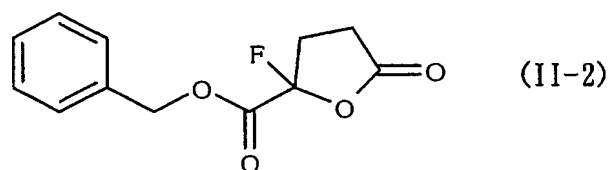
前記医薬に含まれる化合物としては、例えば下記式 (II-1) ；

【化1】



で示される化合物、  
下記式 (II-2) ;

【化2】

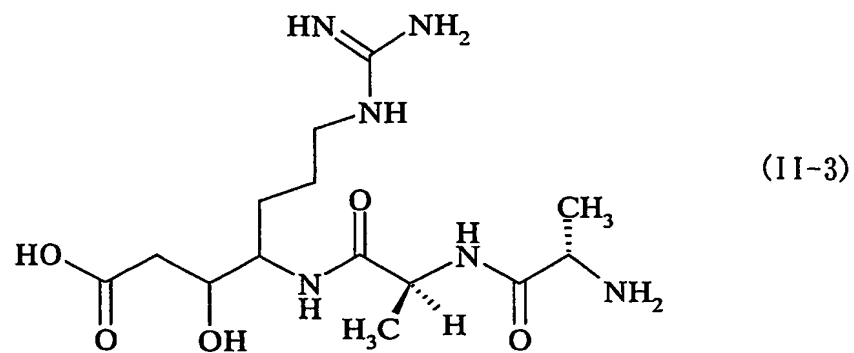


で示される化合物、

【0045】

下記式 (II-3) ;

【化3】



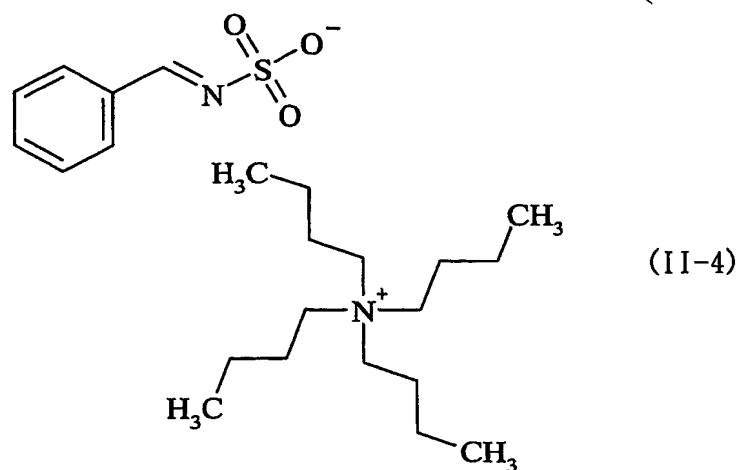
で示される化合物、

【0046】

下記式 (II-4) ;

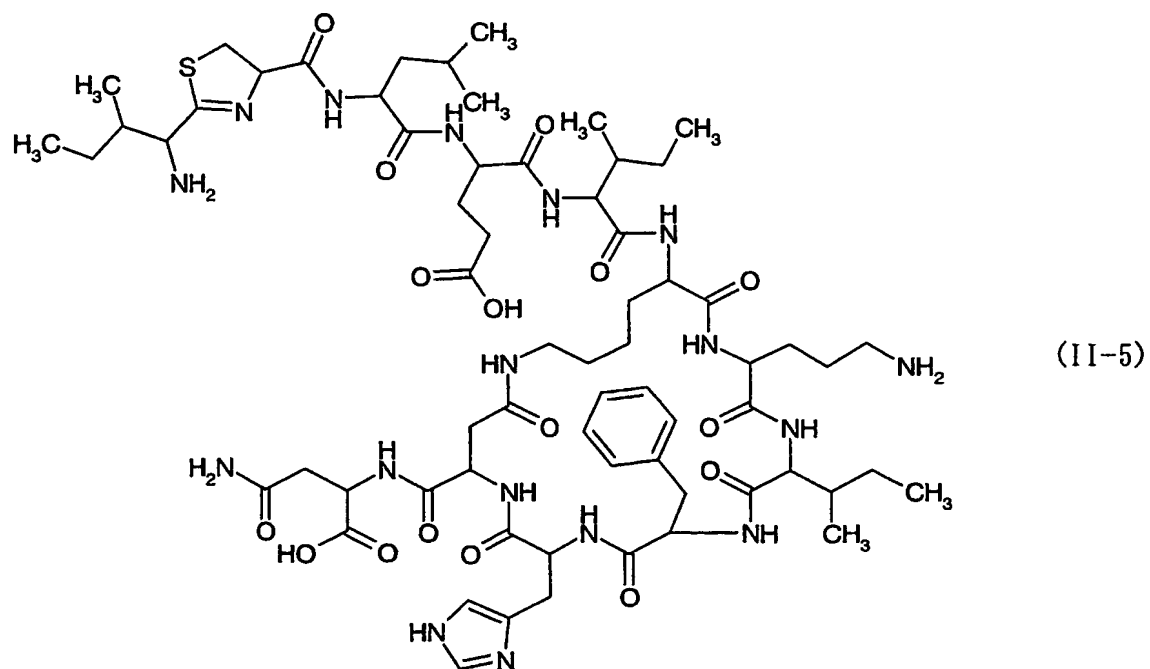


## 【化 4】



で示される化合物、  
下記式 (II-5) ;

## 【化 5】

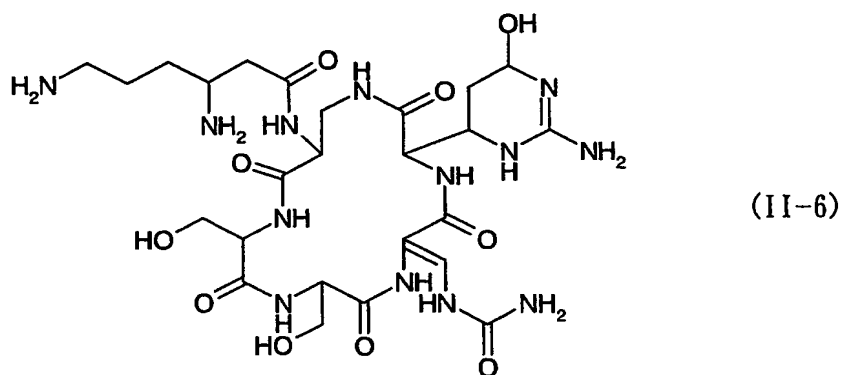


で示される化合物、

## 【0047】

下記式 (II-6) ;

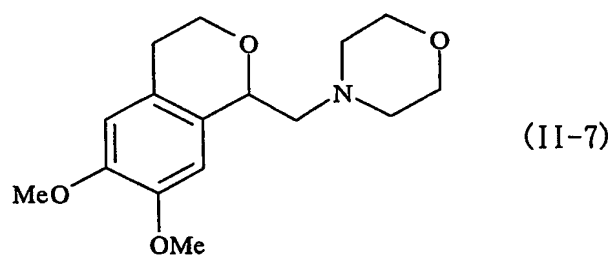
【化 6】



で示される化合物、

下記式 (II-7) ;

【化 7】



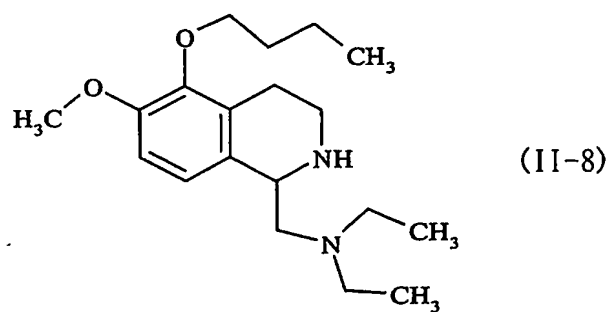
(式中、Meはメチル基を表す。)

で示される化合物、

【 0 0 4 8 】

下記式 (II-8) ;

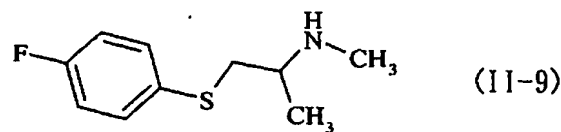
【化8】



で示される化合物、

下記式 (II-9) ;

## 【化9】

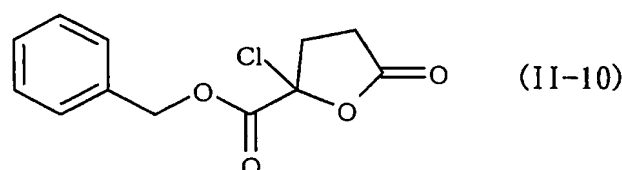


で示される化合物、

## 【0049】

または、下記式 (II-10) ;

## 【化10】



で示される化合物、

が挙げられる。

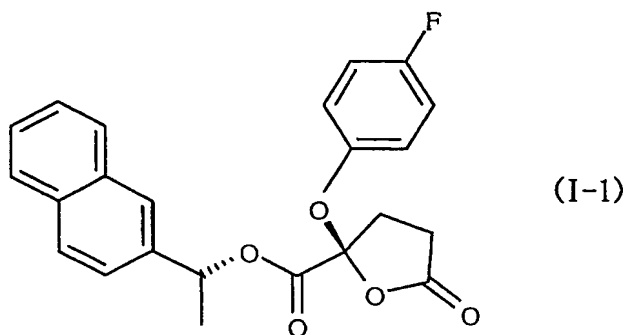
## 【0050】

前記医薬組成物の他の態様として、(a) 調節型CD2-CD4+ Tリンパ球を誘導し細胞障害型マクロファージの産生と機能を抑制し再生促進型CD11b-CD2+マクロファージを優位に増加させるか、または(b) 調節型リンパ球を介さずに再生促進型CD11b-CD2+マクロファージを優位に増加させる化合物を含有することを特徴とする腎臓の尿細管・間質病変の予防または／および治療のための医薬が挙げられる。前記医薬に含まれる化合物は、上記スクリーニング方法により得ることができる。なかでも、前記医薬の好ましい態様としては、ヒト末梢血単核球細胞とマイトマイシン処理ヒト末梢血単核球細胞とが接触して惹起される再生促進型CD11b-CD2+マクロファージおよび調節型CD2-CD4+ Tリンパ球の誘導を促進する化合物を含有することを特徴とする腎臓の尿細管・間質病変の予防または／および治療のための医薬が挙げられる。

## 【0051】

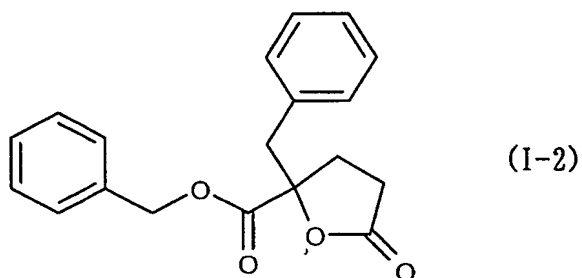
前記医薬に含まれる化合物としては、例えば下記式 (I-1) ;

## 【化 1 1】



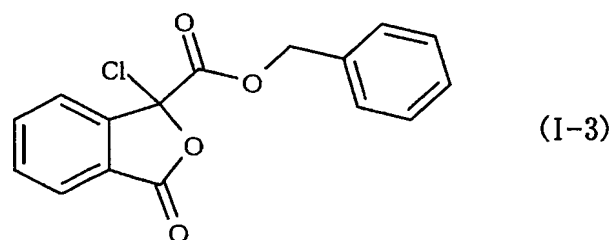
で示される化合物、  
下記式 (I-2) ;

## 【化 1 2】



で示される化合物、  
または、下記式 (I-3) ;

## 【化 1 3】



で示される化合物が挙げられる。

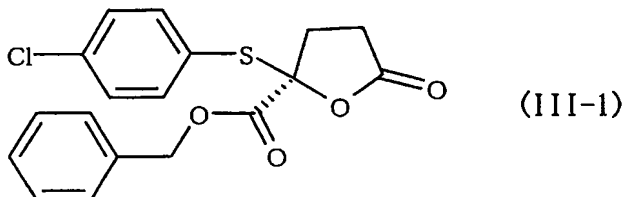
## 【0052】

前記医薬組成物のさらに他の態様としては、調節型CD2-CD4+ Tリンパ球を誘導する化合物を含有することを特徴とする腎臓の糸球体および尿細管・間質病変の

予防または／および治療のための医薬が挙げられる。

前記医薬に含まれる化合物としては、例えば下記式 (III-1) ;

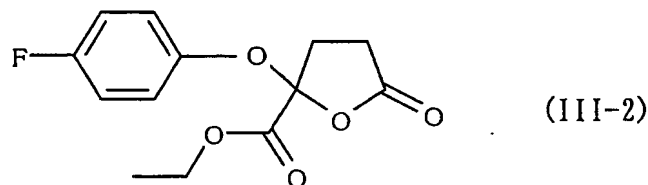
【化 1 4】



で示される化合物、

または、下記式 (III-2) ;

【化 1 5】



で示される化合物、

が挙げられる。

【0053】

本発明にかかる医薬に含まれる化合物は、上記化合物の誘導体であってもよい。前記誘導体としては特に限定されないが、例えば上記化合物中の水素原子、特に  $\text{CH}_3$ 、 $\text{CH}_2$ 、 $\text{CH}$ 、 $\text{NH}$ 、 $\text{NH}_2$ 、 $\text{COOH}$  または  $\text{OH}$  における水素原子が当技術分野で用いられる通常の置換基で置換されている化合物が挙げられる。前記置換基としては、ハロゲン（好ましくは、フッ素、塩素、臭素）、オキシ基、アルキル基（好ましくは  $\text{C}_1 \sim 8$ ）、アルカノイル基（好ましくは  $\text{C}_1 \sim 8$ ）、アルカノイルオキシ基（好ましくは  $\text{C}_1 \sim 8$ ）、アルカノイルアミノ基（好ましくは  $\text{C}_1 \sim 8$ ）、カルボキシ基、アルコキシカルボニル基（好ましくは  $\text{C}_2 \sim 8$ ）、ハロアルキルカルボニル基（好ましくは  $\text{C}_2 \sim 8$ ）、アルコキシ基（好ましくは  $\text{C}_1 \sim 8$ ）、ハロアルコキシ基（好ましくは  $\text{C}_1 \sim 8$ ）、アミノ基、アルキルアミノ基（好ましくは  $\text{C}_1 \sim 8$ ）、ジアルキルアミノ基（好ましくは  $\text{C}_2 \sim 16$ ）、環状アミノ基、アルキルアミノカルボニル基（好ましくは  $\text{C}_2 \sim 8$ ）、

カルバモイル基、水酸基、ニトロ基、シアノ基、メルカプト基、アルキルチオ基（好ましくはC<sub>1</sub>～8）、アルキルスルホニルオキシ基（好ましくはC<sub>1</sub>～8）、アルキルスルホニルアミノ基（好ましくはC<sub>1</sub>～8）、フェニル基またはベンジル基等が挙げられる。

#### 【0054】

また、前記誘導体としては、上記化合物の還元体や酸化体なども挙げられる。さらに、前記誘導体としては、上記化合物の置換基を他の置換基に変換した化合物なども挙げられる。例えば、ハロゲン元素を他のハロゲン元素に変換した化合物、水酸基をメルカプト基に変換した化合物、エーテル結合をチオエーテル結合に変換した化合物、チオエーテル結合をエーテル結合に変換した化合物、複素環基の酸素原子を窒素原子に変換した化合物または複素環基の窒素原子を酸素原子に変換した化合物などが挙げられる。

#### 【0055】

上記化合物は公知化合物であり、既に知られている方法により容易に製造することができる。また上記化合物の誘導体も、当技術分野で公知の方法により上記化合物から容易に製造することができる。

#### 【0056】

本発明の医薬に含まれる化合物が酸性または塩基性を示す場合は、これら化合物の塩を用いることもできる。該化合物の塩としては、生理学的に許容される酸（例えば、無機酸、有機酸）、塩基（例えば、無機塩基、有機塩基）またはアミノ酸（例えば、酸性アミノ酸、塩基性アミノ酸）などとの塩が挙げられる。具体的には、例えば、塩酸、リン酸、臭化水素酸、硫酸との塩などの無機酸塩；または例えば、酢酸、ギ酸、プロピオン酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、酒石酸、クエン酸、リンゴ酸、蔞酸、安息香酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸との塩などの有機酸塩が挙げられる。ナトリウムもしくはカリウムなどのアルカリ金属、マグネシウムもしくはカルシウムなどのアルカリ土類金属との塩などの無機塩基との塩；または、例えばトリメチルアミン、トリエチルアミン、ピリジン、ピコリン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、ジシクロヘキシルアミン、N,N'-ジベンジルエチレンジアミンなどの有

機塩基との塩が挙げられる。塩基性アミノ酸との塩の好適な例としては、例えばアルギニン、リジン、オルニチンなどとの塩が挙げられ、酸性アミノ酸との塩の好適な例としては、例えばアスパラギン酸、グルタミン酸などとの塩が挙げられる。

また、前記医薬に含まれる化合物は、プロドラッグであってもよい。

#### 【0057】

本発明は、以上述べてきた本発明にかかる腎臓の糸球体の予防または／および治療のための医薬（以下、糸球体病変予防治療薬という。）と、本発明にかかる尿細管・間質病変の予防または／および治療のための医薬（以下、尿細管・間質病変予防治療薬という。）とを併用することを特徴とする腎疾患の予防治療薬を提供する。

前記医薬の使用に際しては、糸球体病変予防治療薬と尿細管・間質病変予防治療薬の投与時期は限定されず、投与対象に対し同時に投与してもよいし、時間差をおいて投与してもよい。このような投与形態としては、例えば、（１）糸球体病変予防治療薬と尿細管・間質病変予防治療薬と所望により医薬添加剤とを同時に製剤化して得られる単一の製剤の投与、（２）糸球体病変予防治療薬および所望により医薬添加剤と、尿細管・間質病変予防治療薬および所望により医薬添加剤とを別々に製剤化して得られる２種の製剤の同一投与経路での同時投与、（３）糸球体病変予防治療薬および所望により医薬添加剤と、尿細管・間質病変予防治療薬および所望により医薬添加剤とを別々に製剤化して得られる２種の製剤の同一投与経路での時間差をおいての投与、（４）糸球体病変予防治療薬および所望により医薬添加剤と、尿細管・間質病変予防治療薬および所望により医薬添加剤とを別々に製剤化して得られる２種の製剤の異なる投与経路での同時投与、（５）糸球体病変予防治療薬および所望により医薬添加剤と、尿細管・間質病変予防治療薬および所望により医薬添加剤とを別々に製剤化して得られる２種の製剤の異なる投与経路での時間差をおいての投与などが挙げられる。

#### 【0058】

本発明にかかる医薬は、公知の何れの剤形をとってよく、例えば所望により糖衣を施しまたはフィルムコーティングした錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マ

イクロカプセル剤などの剤形を有し、経口的に投与されるものであってよい。また、水もしくはそれ以外の薬学的に許容し得る液との無菌性溶液、または懸濁液剤などの注射剤などの剤形を有し、非経口的に投与されるものであってもよい。上記剤形は、自体公知の方法で製造することができる。

#### 【0059】

本発明にかかる医薬は、進行性病変、とくに腎臓の糸球体病変や腎臓の尿細管・間質病変に対して効用のある他の薬理作用成分を含んでいてもよい。

また、本発明にかかる医薬は、例えば、香味剤、賦形剤、ベヒクル、防腐剤、安定剤、結合剤など当業界で用いられる添加剤を含有していてもよい。錠剤またはカプセル剤などに混和することができる添加剤としては、例えば、ゼラチン、コーンスターチ、トラガントまたはアラビアゴムのような結合剤；結晶性セルロースのような賦形剤；コーンスターチ、ゼラチンまたはアルギン酸などのような膨化剤；ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤；ショ糖、乳糖またはサッカリンのような甘味剤；ペパーミント、アカモノ油またはチェリーのような香味剤などが用いられる。剤型がカプセルである場合には、上記添加剤の他、さらに油脂のような液状担体を含有させることができる。

#### 【0060】

注射用の水性液としては、例えば、生理食塩水、またはブドウ糖やその他の例えばD-ソルビトール、D-マンニトール、塩化ナトリウムなど補助薬を含む等張液などが用いられる。このとき、例えば、エタノールなどのアルコール；例えば、プロピレングリコールもしくはポリエチレングリコールなどのポリアルコール；例えば、ポリソルベート80TM、HCO-50などの非イオン性界面活性剤などの適当な溶解補助剤を併用してもよい。

油性液としては、例えば、ゴマ油、大豆油などが用いられる。安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどの溶解補助剤を併用してもよい。また、例えば、緩衝剤（例えば、リン酸塩緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液など）、無痛化剤（例えば、塩化ベンザルコニウム、塩酸プロカインなど）、安定剤（例えば、ヒト血清アルブミン、ポリエチレングリコールなど）、保存剤（例えば、ベンジルアルコール、フェノールなど）、酸化防止剤などを配合してもよい。調製された注射液



などの医薬組成物は、通常、適当なアンプルに充填される。

### 【0061】

本発明に係る医薬の1日投与量は、対象疾患、投与ルートまたは剤形などにより相違するので、一概には言えないが、好ましくは約0.1～100mg/kg程度、さらに好ましくは約1～50mg/kg程度である。

### 【0062】

#### 【実施例】

#### ＜実施例1 調節型CD2-CD4+Tリンパ球の産生誘導する化合物＞

方法は、上記スクリーニング方法Cに従って行った。ただし、正常ヒトの末梢血から単球monocyte分画と同時に同じTリンパ球分画を得た。細胞障害型マクロファージの誘導は、単球monocyte分画にマイトジェンを添加することなく6日間培養して誘導した。式(III-1)で示される化合物はエタノールを溶媒にして溶解し、培養開始時の最終濃度を10μg/mlから0.1μg/mlまでの3段階としてTリンパ球分画に培養開始時に添加し同様に6日間培養した。培養終了後に、付着細胞を含めて単球およびTリンパ球を採取した。

式(III-1)で示される化合物で処理した培養Tリンパ球のなかに細胞障害型マクロファージによるSPFC活性を阻害する調節型Tリンパ球が産生されているかを判定するために、SPFC法において、上記単層化した自己赤血球付着したTerasakiプレートのwellに約1x10<sup>4</sup>個の培養単球を添加し、同時に、5倍数の式(III-1)で示される化合物で処理した培養Tリンパ球を加えた。37℃程度で約2時間静置した。

### 【0063】

結果は、表1に示すように、0.1μg/ml以上の濃度でTリンパ球を処理することで、細胞障害型マクロファージの活性を50%以上の抑制を示した。

ヒトTリンパ球のうち、自己赤血球とロゼット形成能を有するautorosette-forming T lymphocytes (ARFC-T) lymphocyteの細胞表面マーカーはCD2+であり、non-autorosette-forming T lymphocytes (non-ARFC-T) はCD2-である。non-ARFC-Tは細胞増殖活性を有することからCD4+が推察される。

以上より、式(III-1)で示される化合物は細胞障害型マクロファージの誘

導に選択性を示さない化合物であるが、調節型CD2-CD4+Tリンパ球を誘導する。

【0064】

【表 1】

表 1. IT 130 化合物添加による調節型Tリンパ球の誘導

化合物(III-1)を 末梢血Tリンパ球に添加し 6日間培養	細胞障害型マクロファージによるSPFC assay 37°C 2時間 反応	標的: 自己赤血球	抑制率 (%) $= \frac{1 - \text{[化合物(III-1)処理Tリンパ球を添加したときのSPFC陽性細胞数/溶媒処理Tリンパ球を添加したときのSPFC陽性細胞数]}{1} \times 100$
ヒト末梢血Tリンパ球に 添加する 化合物(III-1)の濃度	細胞障害型マクロファージに対して培養Tリンパ球を 1:5の比率で添加	細胞障害型マクロファージ 106個あたりの 標的自己赤血球に対する SPFC陽性細胞数	
	細胞障害型マクロファージ単独	3800	
溶媒エタノール添加	細胞障害型マクロファージ + 溶媒処理Tリンパ球	2600	—
化合物(III-1): 10 µg/ml	細胞障害型マクロファージ + 化合物(III-1) 10 µg/ml濃度処理Tリンパ球	200	92.3
化合物(III-1): 1 µg/ml	細胞障害型マクロファージ + 化合物(III-1) 1 µg/ml濃度処理Tリンパ球	1200	53.8
化合物(III-1): 0.1 µg/ml	細胞障害型マクロファージ + 化合物(III-1) 0.1 µg/ml濃度処理Tリンパ球	800	69.2

【0065】

## <実施例 2>

動物実験における病変選択的な免疫調節再生促進型細胞のうち再生促進型マクロファージの誘導効果を示す化合物の評価—14日間一側尿管完全閉塞後の閉塞解除モデルを用いた検討

### 【0066】

#### 方法 I

8-9週齢、約280gのSDラット雄を用いて、石橋が考案確立した方法（石橋道男ほか：日本腎臓学会誌42：248，2000）により実験モデルを作成した。すなわち、ラットをエーテル麻酔下にて開腹し左腎下極の高さで尿管を7-0ナイロンで結紮閉腹した。閉塞14日目に閉塞を解除しカフを用い尿路を再建した。すなわち、14日後に結紮された閉塞尿管を部分切除し、25ゲージポリエチレンチューブ（日本シャーウッド製）をカフとして、下方正常尿管断端より内腔に挿入留置し、次に上方の拡張した尿管内にもカフを留置し、それぞれ7-0ナイロンにて結紮固定し尿路を再建した。同時に、対側の右腎を摘出した。閉塞解除後に体重を測定し、解除後2日目、5日目および7日目に採血して血清クレアチニンを測定し、7日目には麻酔のもと犠死させ、左閉塞解除腎を摘出した。

### 【0067】

摘出した腎について腎重量の測定、腎機能の指標として血漿中のクレアチニン濃度mg/dlの測定、腎病理形態学的検査に加え、閉塞解除腎に浸潤する白血球細胞についてED1マクロファージ、CD11b(ED8)陽性マクロファージ、CD5陽性リンパ球についての細胞表面マーカーを用いて免疫病理学的検討を行った。陽性細胞数の記載は、5個の糸球体に存在した陽性数を測定し糸球体1ヶあたりの細胞数、尿細管・間質については200倍視野に存在する細胞数を5ヶ所選りその総和の細胞数とした。マクロファージについては、糸球体にあるCD11b陽性細胞数はCD11b+CD2+マクロファージとして糸球体1個あたり1個以上の陽性細胞例を陽性とした。尿細管・間質ではCD11b陽性数が60個以下になった例をCD11b-CD2+マクロファージが優位に増加した例と判定した。

### 【0068】

このモデルにおいて、下記のように本発明に係る化合物を投与しない場合は、2週間完全閉塞期間中と閉塞解除後の経時的な病理形態学的検討において、尿細管・間質病変を主体に腎構造の線維化、萎縮をきたすものが閉塞解除により再生腎増大を呈し修復の過程を伴う。閉塞期間中にみられる細胞浸潤としてはCD5陽性T細胞の増加はマクロファージほど著明ではなく、ED1陽性マクロファージが10日目に優位となる。

糸球体病変については、ボーマン嚢壁肥厚と糸球体硝子化を呈する糸球体を数え有病変糸球体の比率を求めた。尿細管・間質病変は尿細管基底膜の肥厚と間質の繊維化を定量化して病変の程度を表した。

#### 【0069】

##### 方法II

試験管内において、リポ多糖類とヒト末梢血単核球細胞を接触させることにより惹起されることを特徴とする腎臓の糸球体病変を選択的に傷害する細胞障害型マクロファージの産生を阻害する化合物(以下、II群化合物という)群として、式(II-1)で示される化合物および式(II-2)で示される化合物が公知のものとして存在する。

また、試験管内において、ヒト末梢血単核球細胞とマイトマイシン処理ヒト末梢血単核球細胞を接触させることを特徴とする腎臓の尿細管・間質病変を選択的に傷害する細胞障害型マクロファージの産生を阻害する化合物(以下、I群化合物という)群として式(I-1)で示される化合物が公知のものとして存在する。

#### 【0070】

このモデルを用いて、本発明に係る $\gamma$ -ラクトン誘導体のin vivoの生物学的な効果を検討した。被検化合物は、アラビアゴムとともに被検化合物の原末を滅菌生理食塩水に溶解し、アラビアゴムは5%、被検化合物は30mg/mlに調整した。連日30mg/kgおよび3mg/kgを経口および皮下注射した。14日間の閉塞期間と7日間の閉塞解除の21日間連日投与した。

なお、被検化合物としては、I群のallo-MLC刺激によるSPFC産生を抑制する化合物、すなわちallo-MLC存在下におけるエフェクターマクロファージの誘導を選択的に抑制する化合物として、式(I-1)で示される化合物を用い、II群

のLPS刺激によるSPFC産生を抑制する化合物、すなわちLPS存在下におけるエフェクターマクロファージの誘導を選択的に抑制する化合物として式(II-1)で示される化合物および式(II-2)で示される化合物を用いた。

実験群としては、単独投与群、両群を併用した群およびアラビアゴムの溶媒投与の対照群を設け、腎機能、形態的な評価に加えて、免疫病理学的方法によりED1、CD5、CD11b陽性細胞数を比較した。

【0071】

その結果を表2に示す。

【表2】

実験群	化合物	動物 番号	糸球体病変再生 CD11b+CD2+Mφ数		尿細管・間質病変再生 CD11b-CD2+Mφ数		2種類の 再生Mφ 陽性一致		糸球体病変		尿細管・間質病変		血清 クレア チニン mg/dl
			糸球体1個 あたりの 陽性細胞数	判定: 増加 +	5視野(×200倍) あたりの 陽性細胞数	判定: 増加 +			病変糸球体 の割合(%)	判定: 病変の改善 有り+なし-	病変の程度 (定性)	判定: 病変の改善 有り+なし-	
対照群 5% アラビアゴム		407	0.0	-	18	+	不一致	54	対照群	-	9.0	対照群	2.2
		408	0.8	-	141	-	不一致	83			9.0		3.8
		409	1.8	+	86	-	不一致	83			10.0		1.9
		410	1.2	+	64	-	不一致	55			11.0		3.0
		506	0.3	-	16	+	不一致	63			7.5		2.2
		508	2.3	+	73	-	不一致	60			9.5		2.1
I 群化合物 (I-1) 30mg/kg 皮下		401	0.5	-	24	+	不一致	29	+	-	7.0	-	3.0
		402	2.0	+	140	-	不一致	39			4.0		2.7
		403	0.0	-	59	+	不一致	57			3.0		2.8
		404	1.3	+	41	+	一致	67			3.0		2.2
II 群化合物 (II-1) 30mg/kg 皮下		501	1.2	+	39	+	一致	10	+	+	7.5	-	2.6
		502	1.7	+	49	+	不一致	14			9.0		1.7
		503	1.1	+	15	+	一致	22			9.0		1.7
		504	2.8	+	65	-	不一致	57			8.0		2.0
		505	2.0	+	26	+	一致	23			6.5		1.8
		601	0.7	-	33	+	不一致	32			4.5		2.0
II 群化合物 (II-2) 30mg/kg 皮下		602	1.7	+	35	+	一致	28	+	+	6.5	-	2.5
		603	2.3	+	27	+	一致	19			4.5		2.0
		604	1.4	+	16	+	一致	18			6.5		2.3
		1101	0.4	-	1	+	不一致	5			3.0		2.3
I 群化合物 (I-1) 30mg/kg 経口 + II 群化合物 (II-1) 3mg/kg 皮下		1102	1.3	+	17	+	一致	0	+	+	5.0	-	2.0
		1103	3.1	+	37	+	一致	7			2.0		2.9
		1105	1.0	+	34	+	一致	12			2.5		2.6
		1106	1.5	+	7	+	一致	19			4.5		1.8
		1202	1.2	+	37	+	一致	18			2.0		1.3
		1203	1.5	+	20	+	一致	16			0.5		2.2
I 群化合物 (I-1) 3mg/kg 皮下 + II 群化合物 (II-2) 30mg/kg 経口		1204	1.8	+	21	+	一致	5	+	+	0.5	+	1.4
		1206	1.8	+	16	+	一致	4			0.5		1.9

病変再生マクロファージ(Mφ)陽性細胞の判定:糸球体1個あたり1細胞数以上、尿細管・間質病変あたり60細胞数以下をそれぞれ陽性+とした。  
尿細管・間質病変の程度の判定スコア:++は1、+++は2、++++は3とした。  
糸球体病変の改善は病変糸球体数の割合が40%以下に減少したもの、尿細管・間質病変は病変の程度が4以下を呈したものとした。

【0072】

対照群において、糸球体内に再生促進型CD11b+CD2+マクロファージ、尿細管・  
間質病変に再生促進型CD11b-CD2+マクロファージが、存在することがわかる。し

かしながら、それぞれの病変に認められた再生促進型マクロファージがともに増加する一致した応答を示した動物は対照群には存在していないことが重要な結果として注目される。対照群における病変の程度は、糸球体の54%から83%に病変が認められ、尿細管・間質病変も尿細管基底膜の肥厚と間質の繊維化が定性7.5から11のレベルに認められた。

#### 【0073】

まず、治療群I群化合物である式(I-1)で示される化合物は、公知の化合物であり選択的に尿細管・間質病変をきたす細胞障害型マクロファージの誘導を阻害するものとして知られている。このI群化合物である式(I-1)で示される化合物による選択的な、すなわち尿細管・間質病変に対する病変修復再生CD11b-CD2+マクロファージが誘導されているかをみると、4例中3例が尿細管・間質病変に対する再生促進型マクロファージが増加している一方、糸球体病変の再生促進型マクロファージは4例中2例と対照群の場合に比して変わりなかった。病理学的な病変の改善については、尿細管・間質病変のみが4例中3例に改善し糸球体病変には改善がなかった。血清クレアチニンには差がなかった。

#### 【0074】

治療群II群化合物である式(II-1)で示される化合物とII群化合物である式(II-2)で示される化合物は、公知の化合物であり選択的に尿細管・間質病変をきたす細胞障害型マクロファージの誘導を阻害するものとして知られている。II群化合物である式(II-1)で示される化合物の治療群をみると、糸球体病変の再生促進型CD11b+CD2+マクロファージの増加が5例中すべてに認められたのに加えて、尿細管・間質病変の修復再生CD11b-CD2+マクロファージも5例中4例に増加していた。II群化合物はI群化合物と異なり他の病変を修復再生するマクロファージが誘導されていた。病理学的な病変の改善については、糸球体病変も5例中4例に改善を示し、尿細管・間質病変には改善はなく選択性がみられた。

#### 【0075】

II群化合物である式(II-2)で示される化合物投与群の効果は、II群化合物である式(II-1)で示される化合物と同様で、再生促進型マクロファージは双方の病変にも増加しており、病変の改善もII群化合物である式(II-1)で示さ



れる化合物と同様な糸球体病変の改善に選択性を示した。

以上の結果については、I群化合物である式(I-1)で示される化合物については再生促進型マクロファージの誘導と病変の改善が一致し選択性が認められるが、II類化合物の二種類では、糸球体病変の改善とに選択性の相関が見られるのに、糸球体病変と尿細管・間質病変の再生促進型マクロファージの誘導には相関がなかった。それで、CD87、すなわち、uPAR (receptor of urokinase plasminogen activator) についての表現型の違いが考えられ、糸球体病変の再生促進型マクロファージではCD11b-CD2+CD87-であり、尿細管・間質病変の再生促進型マクロファージではCD11b-CD2+CD87+の可能性が考えられる。

#### 【0076】

さらに、上記の結果を踏まえI群化合物とII群化合物を併用した場合には、糸球体病変と尿細管・間質病変に選択性がより明確になるかを検討した。

I群化合物である式(I-1)で示される化合物を経口投与としII群化合物である式(II-1)で示される化合物を10倍少ない量で皮下中した併用群、そして、II群化合物である式(II-2)で示される化合物を経口投与としI群化合物である式(I-1)で示される化合物を10倍少ない量で皮下中した併用群、のふたつの実験群では、糸球体病変、尿細管・間質病変への両病変にみられる再生促進型マクロファージの一致例は9例中8例と増え、しかも糸球体病変と尿細管・間質病変双方の改善も糸球体病変は全例、尿細管・間質病変は9例中7例に改善が示された。とくにII群化合物である式(II-2)で示される化合物を経口投与としI群化合物である式(I-1)で示される化合物を10倍少ない量で皮下中した併用群にその効果が優れていた。

#### 【0077】

##### 〔製剤例1〕

錠剤

(1) 化合物 (I-1)	10 g
(2) 乳糖	90 g
(3) トウモロコシ澱粉	29 g
(4) ステアリン酸マグネシウム	<u>1 g</u>

130g

成分(1)、(2)及び24gの成分(3)を水と共に混和して顆粒化し、この顆粒に5gの成分(3)と成分(4)を加えて混和し、混合物を圧縮錠剤機で圧縮し、錠剤1錠当たり成分(1)を10mg含有する直径7mmの錠剤1000個を製造する。

【0078】

〔製剤例2〕

化合物(I-1)の代わりに、化合物(II-1)を用いて前記と同様に錠剤を製造する。

【0079】

〔製剤例3〕

カプセル剤

(1) 化合物(I-1)	50mg
(2) 乳糖	14mg
(3) トウモロコシ澱粉	29mg
(4) ヒドロキシプロピルセルロース	6mg
(5) <u>ステアリン酸マグネシウム</u>	<u>1mg</u>

1カプセルあたり 100mg

上記の成分(1)、(2)、(3)、(4)を混和した後、常法に従って顆粒化する。これに成分(5)を加え、常法に従ってゼラチンカプセルに封入し、カプセル剤とする。

【0080】

〔製剤例4〕

化合物(I-1)の代わりに、化合物(II-1)を用いて前記と同様にカプセル剤を製造する。

【0081】

【発明の効果】

実施例の結果から、本来、腎臓における病変の場合には糸球体病変と尿細管・間質病変それぞれに対応する再生促進型マクロファージが存在し、糸球体の硬化

、尿細管・間質の萎縮、繊維化などの進行性病変をもたらす機序を阻止する機構が存在することを知見した。

選択的に糸球体病変または尿細管・間質病変に誘導される細胞障害型マクロファージの産生を阻害する化合物を動物実験にて効果を検討したところ、対応する病変に選択的な再生促進型マクロファージを誘導できる作用を併せ持つ化合物であることが判明した。

#### 【0082】

これら化合物の投与実験であきらかになったことは、腎臓全体の病変を改善するためには、糸球体病変と尿細管・間質病変双方に一致した細胞障害型マクロファージを調整型Tリンパ球の誘導により選択的に抑制し、同時に再生促進型マクロファージを局所病変へ選択的に誘導するという合目的な免疫応答の制御が必要であることを知見した。そして、糸球体病変と尿細管・間質病変それぞれに薬効をもつ化合物を併用して腎疾患を治療する方法を知見した。

このように、本発明は、調節型Tリンパ球を誘導し、選択的な病変特有の再生促進型マクロファージを誘導する化合物をスクリーニングできる方法を提供できる。そして、スクリーニングによりえられた化合物は、病変の改善のために細胞障害型マクロファージの選択的な抑制も同時に行うものであることが好ましい。

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 本発明は、臓器組織障害に対して病変選択的な再生促進型免疫担当細胞を誘導することによって病変選択的に修復と再生をもたらす予防または/および治療するための医薬を提供することを目的とする。

【解決手段】 調節型Tリンパ球と再生促進型マクロファージを誘導する化合物を含有することを特徴とするアポトーシス死、変性、線維化と萎縮に至る硬化病変を抑え、選択的に前記病変を修復再生する医薬組成物。

【選択図】 なし

特願2002-265884

出願人履歴情報

識別番号

[500138054]

1. 変更年月日

2000年 3月28日

[変更理由]

新規登録

住 所

大阪府堺市庭代台4丁25番16号

氏 名

石橋 道男